



دانشگاه علوم پزشکی کرمان

دانشکده پزشکی مهندس افضلی پور

پایان نامه مقطع کارشناسی ارشد رشته انگل شناسی پزشکی

عنوان:

ارزیابی فعالیت ضدلیشمانیایی عصاره چای سبز (Epigallocatechin 3 - O - Gallate) بر روی پروماستیگوت و آماستیگوت لیشمانیا تروپیکا در شرایط برون تنی

توسط: مرتضی صدوقی

استاد راهنما: دکتر ایرج شریفی

استاد مشاور: دکتر زهرا بابایی

سال تحصیلی: ۹۶ - ۱۳۹۵



Kerman University of Medical Sciences

Faculty of Medicine

In Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree
(MSc)

Title:

**Evaluation *Leishmanicidal* activity of Green Tea extract (*Epigallocatechin 3*
– *O* – *Gallate*) on *Leishmania tropica* promastigote & amastigote in vitro,
2017-2018**

By:

Morteza Saduqi

Supervisor:

Dr. Iraj Sharifi

Year:

2018

چکیده

مقدمه و هدف: لیشمانیازیس یکی از بیماری های انگلی است که به طور گسترده در جهان گسترش یافته است. لیشمانیا مازور و لیشمانیا تروپیکا باعث بروز لیشمانیوز جلدی می شوند. از نظر بالینی، ضایعات ناشی از لیشمانیا تروپیکا بیشتر طول می کشند و برای درمان مشکل تر از موارد ایجاد شده توسط لیشمانیا مازور هستند. فلوئوموس سرژانتی ناقل اصلی لیشمانیا تروپیکا می باشد. پیدا کردن یک داروی گیاهی برای درمان لیشمانیوز یکی از اهداف جهانی است. این مطالعه به منظور ارزیابی فعالیت ضد لیشمانیایی و آپوپتوزیس یک عصاره گیاهی بر مراحل مختلف لیشمانیا تروپیکا طراحی شده است.

مواد و روش ها: غلظت های مختلف عصاره چای سبز در برابر مراحل لیشمانیا تروپیکا با استفاده از روش MTT و مدل ماکروفاژ مورد استفاده قرار گرفتند و غلظت بازدارنده (IC_{50}) با شمارش انگل ها محاسبه شد. برای آماسیگوت های درون ماکروفاژ، فعالیت ضد لیشمانیایی به وسیله شمارش میانگین تعداد آماسیگوت ها و مقدار IC_{50} مورد ارزیابی قرار گرفت. برای تعیین مقادیر IC_{50} داروها بر پروماستیگوت ها، میزان OD توسط الیزا اندازه گیری شد. پروماستیگوت ها به همراه غلظت های مختلف EGCG و گلوکانتیم انکوبه شدند و برای ارزیابی آپوپتوزیس از کیت annexin V-FITC استفاده شد. تمام غلظت های درمانی برای یک زمان استاندارد ۷۲ ساعته و بصورت سه تایی انکوبه و مورد آزمایش قرار گرفتند.

یافته ها: یافته ها نشان داد که عصاره چای سبز باعث کاهش میزان تکثیر پروماستیگوت ها و آماسیگوت ها می شود ($P < 0.001$). تعداد پروماستیگوت ها و آماسیگوت ها در حضور غلظت های مختلف EGCG کاهش یافت. ۷۲ ساعت پس از کشت، میانگین تعداد آماسیگوت ها در هر صد ماکروفاژ که به صورت تریپلیکیت تکرار شدند، برای گروه کنترل ۸۴،۲ و برای غلظت های ۲۵ و ۵۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر EGCG برابر ۳۵،۴ و ۴،۹ بود. میانگین مقادیر IC_{50} برای پروماستیگوت ها و آماسیگوت ها ۸۶،۸۵ و ۲۰،۷ میکروگرم بر میلی لیتر بود.

نتیجه گیری: این مطالعه نشان داد که ارگانایسم نسبت به داروی کنترل مقاومت نسبی پیدا کرده و عصاره چای سبز مانع رشد پروماستیگوت ها و آماسیگوت ها شده و آپوپتوز پروماستیگوت های لیشمانیا را افزایش می دهد.

کلمات کلیدی: عصاره چای سبز، فعالیت ضدلیشمانیایی، لیشمانیا تروپیکا، آپوپتوز، فلوئومتری

Abstract:

Background: *Leishmaniasis* are parasitic diseases with widely spread in world. *Leishmania major* and *L. tropica* cause cutaneous leishmaniasis (CL). clinically, lesions caused by *L. tropica* last longer and are more difficult to treat than those caused by *L. major*. *Leishmania* development in sand flies is facilitated. *Phlebotomus sergenti* is main vector of *L. tropica*. Finding an herbal drug to treatment of leishmaniasis is one of global purposes. This study was designed to evaluate the leishmanicidal activity and apoptosis of one plant extract on *L. tropica* stages.

Materials and methods: Various concentrations of Epigallocatechin 3 – O – Gallate (EGCG) against *L. tropica* stages by MTT assay and macrophage model were used and the inhibitory concentration 50 (IC₅₀) was calculated by counting of the parasites. For intramacrophage amastigotes, the leishmanicidal activity was evaluated by the mean number of amastigotes and IC₅₀ values. The optical density was measured by ELISA to determine the IC₅₀ values for promastigotes. Promastigotes were incubated with EGCG or Glucantime at various concentration and Used annexinV-FITC staining kit in the presence of 7AAD for evaluation of apoptosis. All treatment settings were incubated for a standard time of 72hours in triplicates.

Results: The findings showed that extract of Green tea inhibited the proliferation rate of promastigotes and amastigotes ($P < 0.000$). The number of promastigotes and amastigotes were declined in the presence of various concentrations of EGCG. 72 hours after culturing, the mean number of amastigotes in each macrophages x100 in triplicates was 84.2 in the control group and in the concentrations of 25 and 500 µg/ml EGCG were 35.4 and 4.9, respectively. The mean IC₅₀ values of EGCG for promastigotes and amastigotes were 86.85 and 20.7 (µg/ml).

Conclusion: This study revealed that extract of green tea prevented the development of the promastigotes and amastigotes and induced apoptosis against the *Leishmania* promastigotes.

Keywords: Medicinal plants, Leishmanicidal activity, *Leishmania* species, Apoptosis, Flow cytometry.



بسمه تعالی

تاریخ.....

صورتجلسه دفاع از پایان نامه

شماره.....

پیوست.....

دانشگاه علوم پزشکی کرمان

تخصصات تکمیلی دانشگاه

جلسه دفاعیه پایان نامه تحصیلی آقای مرتضی صدوقی دانشجوی کارشناسی ارشد رشته انگل شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی کرمان تحت عنوان " ارزیابی فعالیت ضد لیشمانیایی عصاره چای سبز (اپیگالوکاتچین گالات) بر روی پروماستیگوت و استیگوت لیشمانیا تروپیکا در شرایط برون تنی " در ساعت ۱۰ روز دوشنبه مورخ ۹۶/۱۲/۷ با حضور اعضای محترم هیات داوران

شماره.....

سمت	نام و نام خانوادگی	امضا
الف: استاد راهنما (اول)	جناب آقای دکتر ایرج شریفی	
ب: استاد راهنما (دوم)	
ج: استاد مشاور	سرکار خانم دکتر زهرا بابایی	
د: عضو هیات داوران (داخلی)	جناب آقای دکتر ناصر ضیاء علی	
ذ: عضو هیات داوران (خارجی)	جناب آقای دکتر عبدالله جعفر زاده	
و: عضو هیات داوران (خارجی)	
تماینده تحصیلات تکمیلی	سرکار خانم دکتر زهرا بابایی	

این پروپوزال و ضمن ارزیابی به شرح پیوست با درجه..... پیوسته..... و نمره..... ۱۸.۷ مورد تأیید قرار گرفت.

